

HPLC法检查盐酸多奈哌齐制剂中的有关物质

赵 喆*,唐素芳,王 卫(天津市药品检验所,天津 300070)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)29-2759-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.29.24

摘要 目的:建立适用于多种盐酸多奈哌齐制剂有关物质检查的方法,为该品种国家标准的统一提供依据。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Thermo Hypersil GOLD C₁₈,流动相为含有1-癸烷磺酸钠、乙腈、高氯酸的混合水溶液,流速为1.0 ml/min,检测波长为271 nm,柱温为35 ℃,进样量为20 μl。采用自身对照法检查盐酸多奈哌齐片、胶囊和分散片3种制剂共9批样品中的有关物质。结果:盐酸多奈哌齐的检测质量浓度线性范围为0.22~13.40 μg/ml($r=0.9999$),相应的杂质限度范围为0.05%~3.0%,系统精密度试验、稳定性试验的RSD≤0.5%;9批样品中总杂质质量≤0.44%($n=2$)。结论:建立的方法准确、简便,可用于盐酸多奈哌齐大部分口服制剂的有关物质检查,可为完善和统一现行众多的国家标准提供支持。

关键词 高效液相色谱法;盐酸多奈哌齐;口服制剂;有关物质检查

Determination of Related Substances in Donepezil Hydrochloride Preparations by HPLC

ZHAO Zhe, TANG Su-fang, WANG Wei(Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the determination of related substances in Donepezil hydrochloride preparations. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Thermo Hypersil GOLD C₁₈ with mobile phase consisted of sodium 1-decansulfonate-acetonitrile-perchloric acid at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 271 nm and column temperature was 35 ℃. The injection volume was 20 μl. Related substance of 9 batches of Donepezil hydrochloride tablets, capsules and dispersible tablets were determined by self-control method. RESULTS: The linear range of donepezil hydrochloride was 0.22-13.40 μg/ml ($r=0.9999$) and the limit of related impurity was 0.05%-3.0%. RSD of precision and stability tests were ≤0.5%; total content of impurity were ≤0.44% ($n=2$) in 9 batches of samples. CONCLUSIONS: The method is accurate and simple, and can be used for the determination of related substance in most of Donepezil hydrochloride oral preparation, and provide support for the perfection and unite on the current, numerous national standards.

KEYWORDS HPLC; Donepezil hydrochloride; Oral preparations; Related substances

盐酸多奈哌齐(Donepezil hydrochloride, DH)是第二代胆碱酯酶(CHE)抑制剂,为一种长效的阿尔茨海默病的对症治疗药,也是唯一的被美国FDA和英国卫生部药品管理局(MCA)批准上市的治疗轻度或中度阿尔茨海默型痴呆症的新药^[1-2],目前已在40多个国家和地区上市,其制剂有普通片、胶囊、分散片等。现行版的国外药典中《美国药典》(USP35)^[3]收录了原料和片剂,《日本药局方》(JP16)^[4]仅收录了原料,制剂均未见收录。在我国,DH的原料及制剂均尚未载入2010年版《中国药典》,执行的还是原国家食品药品监督管理局标准(简称国标)^[5-7]。目前各厂家执行的现行国标中检验项目设置各不相同,特别是有关物质项目,有的甚至无该项检查;有的即使有,经试验验证流动相系统根本无法将杂质全部分离,故对本品制剂的质量控制存在隐患。自接受国家药典委员会2011年基本药物标准提高的任务后,我所对DH制剂的质量标准进行了修订和统一,有关物质的研究工作采用了USP35有关物质的流动相系统并结合国内产品的生产工艺,对DH片、胶囊和分散片几种剂型的有关物质情况进行了研究和考察,建立了有效可控的检查方法,完善了质量标准,有效控制了本品的质量。本文就普通片、胶囊、分散片分别选取1个生产厂家的3批样品进行试验,结果报道如下。

1 材料

1.1 仪器

1200系列高效液相色谱(HPLC)仪,包括泵、脱气机、二极

*副主任药师。研究方向:化学药品的分析及质量标准的起草。
电话:022-23374074。E-mail:zhaozhe507@163.com

管阵列紫外检测器、自动进样设备、柱温箱等(美国Agilent公司);AE 240型分析天平(瑞士Mettler Toledo仪器公司)。

1.2 药品与试剂

DH对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100650-200301,纯度:100%);杂质对照品(代码分别为ER-615 HCl、ER-35581 HCl、ER-35493 HCl,简称为杂质a、b、c)均由原研药厂卫材(中国)有限公司提供,为杂质混合物作定位用,无批号和纯度,目前国内无供应;DH原料药(天津某制药厂,批号:1073-09-11-16-1,含量:100.4%);DH片(陕西某制药有限公司,批号:110201、110301、110502),DH胶囊(上海某药业有限公司,批号:1010016、1103009、1103010),DH分散片(山东某药业股份有限公司,批号:091243、100922、1004211),以上3种制剂规格均为每片(粒)5 mg;乙腈为色谱纯,高氯酸为分析纯,水为纯化水。

2 有关物质检查

2.1 色谱条件

色谱柱:Thermo Hypersil GOLD C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:称取1-癸烷磺酸钠2.5 g溶于650 ml水中,加乙腈350 ml和1 ml高氯酸混合均匀(pH约为1.8),流速:1.0 ml/min;检测波长:271 nm;柱温:35 ℃;进样量:20 μl。

2.2 溶液的制备

系统适用性溶液:称取杂质对照品a、b、c各10 mg,置于250 ml量瓶中,加供试品溶液溶解并稀释至刻度,摇匀。

供试品溶液:取本品的细粉适量或内容物适量(约相当于DH 10 mg),置于25 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,

摇匀,滤过。

对照溶液:精密量取供试品溶液1 ml,置于200 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀。

灵敏度测试溶液:精密量取对照溶液2 ml,置于50 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀。

辅料溶液:按照各生产企业提供的处方比例,按供试品溶液制备方法分别制备不含主成分的辅料溶液。

2.3 系统适用性试验

量取系统适用性溶液20 μ l注入色谱仪,结果显示,3个杂质全部检出,均与主峰完全分离,而且峰形对称,主峰的保留时间约为11 min,杂质a、b、c的相对保留时间分别为0.41、0.72和1.16,理论板数按主峰计为6 100,色谱图见图1。

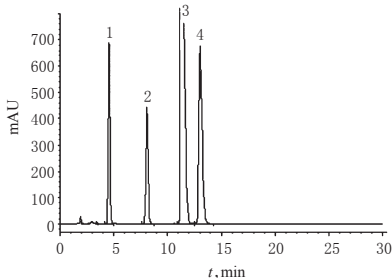


图1 系统适用性溶液高效液相色谱图

1.杂质a;2.杂质b;3.DH;4.杂质c

Fig 1 HPLC chromatograms of system suitability test

1. impurity a; 2. impurity b; 3. donepezil hydrochloride; 4. impurity c

为考察流动相系统的适用性,又增加2种不同品牌的色谱柱进行试验,考察各杂质峰的相对保留时间和理论板数(按主成分峰计)。结果表明,采用3种色谱柱(①Thermo Hypersil GOLD、②Aligent Zorbax SB、③Phenomenex Gemini)时,各杂质的相对保留时间分别为a: 0.42、0.28、0.34, b: 0.73、0.65、0.68, c: 1.15、1.20、1.21,理论板数分别为6 100、3 500、6 400。可见,尽管色谱柱品牌不同,该流动相系统均可将杂质完全分离,且适用性良好,可用于本品的有关物质检查。

2.4 有关物质的检查方法及限度的确定

量取灵敏度测试溶液20 μ l注入色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分峰的信噪比不小于10;再精密量取供试品溶液与对照溶液各20 μ l,分别注入色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的2倍。USP35对3个已知杂质分别控制,鉴于杂质对照品目前国内尚无法提供的实际情况,拟订标准时仍采用自身对照法控制杂质的量,结合收集到各厂家的检验结果最终将杂质限度定为:供试品溶液色谱图中如有杂质峰,扣除相对保留时间0.30之前的辅料峰,单个杂质不得过0.5%,杂质总量不得过1.5%;供试品溶液色谱图中任何小于灵敏度测试溶液主峰面积的杂质峰可忽略不计(0.02%)。

2.5 专属性试验

选取DH原料药1批,同时配制全辅料,即参考各个厂家提供的普通片、胶囊、分散片的处方,选取所有处方中包含的成分按比例配制辅料。分别称取原料药10 mg和全辅料0.28 g(按主成分约10 mg的比例),置于25 ml量瓶中,加流动相10 ml溶解,进行试验:(1)酸破坏:加盐酸1 ml,80 $^{\circ}$ C水浴加热1 h,放冷,用氢氧化钠饱和溶液调pH至中性,加流动相稀释至刻度,摇匀。辅料溶液需滤过,取续滤液试验(以下同)。(2)碱破坏:加氢氧化钠试液2 ml,80 $^{\circ}$ C水浴加热1 h,放冷,用1 mol/L盐酸溶液调pH至中性,加流动相稀释至刻度,摇匀。(3)氧化

破坏:加30%过氧化氢溶液1 ml,80 $^{\circ}$ C水浴加热1 h,放冷,加流动相稀释至刻度,摇匀。(4)高温破坏:80 $^{\circ}$ C水浴加热1 h,放冷,加流动相稀释至刻度,摇匀。(5)光照破坏:加流动相稀释至刻度,摇匀,直接日光照射10 d。分别取上述5种溶液,进样测定。结果表明,在上述破坏试验条件下,原辅料溶液在高温条件下溶液均比较稳定,色谱图基本无变化;在光照条件下,原料溶液有一些小的降解杂质峰,辅料溶液比较稳定,无变化;其余的试验条件下原辅料溶液均有降解,但降解的杂质均可与主峰达到基线分离。辅料溶液对主峰的测定均无干扰,表明拟订的色谱条件专属性较好,色谱图见图2。

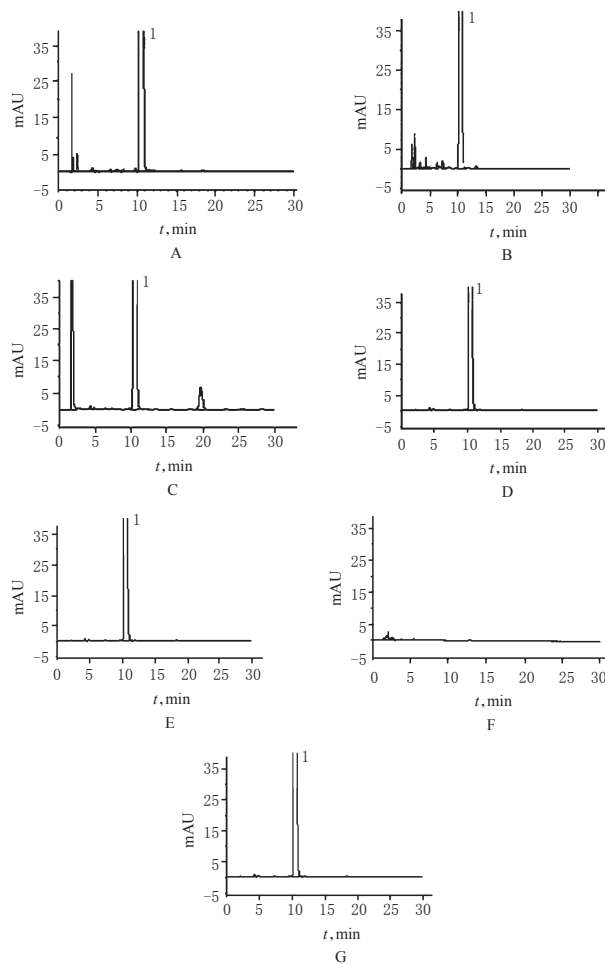


图2 专属性试验高效液相色谱图

A.酸破坏供试品;B.碱破坏供试品;C.氧化破坏供试品;D.高温破坏供试品;E.光照破坏供试品;F.辅料;G.未破坏供试品;1.DH

Fig 2 HPLC chromatogram of specificity test

A. sample destroyed by acid; B. sample destroyed by alkali; C. sample destroyed by oxidation; D. sample destroyed by heat; E. sample destroyed by light; F. excipients; G. sample not be destroyed; 1. donepezil hydrochloride

2.6 线性关系试验

精密称取DH对照品10 mg,置于50 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取5 ml,置于50 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取适量,分别加流动相稀释制成质量浓度约为0.2、0.4、0.8、2.0、4.0、8.0、12.0 μ g/ml的系列溶液,分别精密量取上述溶液20 μ l注入色谱仪,记录色谱图;以DH的质量浓度(c)为横坐标,以相应的峰面积(A)为

纵坐标,进行线性回归。结果线性方程为 $A=33.804c+2.4052$ ($r=0.9999, n=7$),表明DH检测质量浓度线性范围为0.22~13.40 $\mu\text{g/ml}$,对应的杂质限度范围为0.05%~3.0%。

2.7 系统精密度试验

分别选取普通片、胶囊和分散片各1批样品(批号:110201、1010016、091243),精密称定,按“2.6”和“2.2”项下方法制备对照品溶液和供试品溶液,分别重复进样5次,结果对照品溶液主峰峰面积RSD为0.5%,普通片、胶囊和分散片主峰峰面积的RSD分别为0.05%、0.06%、0.08% ($n=5$)。

2.8 方法精密度试验

取“2.7”项下3种制剂样品各6份,制备成供试品溶液并进样、计算,结果普通片、胶囊、分散片的最大单个杂质量的RSD分别为8.4%、3.4%、0;杂质总量的RSD分别为8.8%、13.0%、14.0% ($n=6$)。

2.9 稳定性试验

取对照品溶液及各种剂型的供试品溶液在室温下分别放置0、4、8、12 h,进样测定,观察主峰及各杂质峰面积的变化。结果表明,各溶液在12 h内均基本稳定,对照品溶液主峰峰面积的RSD为0.5%,各供试品溶液主峰峰面积的RSD均小于0.1% ($n=4$)。

2.10 耐用性试验

3种剂型各选择1批样品,采用“2.3”项下3种不同的色谱柱进行有关物质测定,进行耐用性考察。结果表明,采用不同的色谱柱测定,检出杂质个数基本相同,最大单一杂质和杂质总量的测定结果基本一致,表明本方法的耐用性较好,适用于不同品牌的 C_{18} 色谱柱,结果见表1。

表1 耐用性试验结果($n=3$)

Tab 1 Results of serviceability test ($n=3$)

| 样品 | 批号 | 色谱柱编号 | 杂质个数 | 最大单个杂质量, % | 杂质总量, % |
|-----|---------|-------|------|------------|---------|
| 普通片 | 110201 | ① | 4 | 0.14 | 0.30 |
| | | ② | 6 | 0.16 | 0.31 |
| | | ③ | 6 | 0.08 | 0.29 |
| 胶囊 | 1010016 | ① | 5 | 0.11 | 0.23 |
| | | ② | 5 | 0.10 | 0.21 |
| | | ③ | 5 | 0.11 | 0.23 |
| 分散片 | 091243 | ① | 4 | 0.07 | 0.20 |
| | | ② | 4 | 0.07 | 0.20 |
| | | ③ | 4 | 0.06 | 0.18 |

2.11 样品中有关物质检查

精密量取对照溶液与供试品溶液照“2.4”项下有关物质的检查方法和计算方法,对3种剂型各3批样品进行有关物质检查,结果见表2、图3。

表2 样品有关物质检查结果($n=2$)

Tab 2 Results of related substances in samples ($n=2$)

| 样品 | 批号 | 杂质个数 | 最大单个杂质量, % | 总杂质, % |
|-----|---------|------|------------|--------|
| 普通片 | 110201 | 4 | 0.14 | 0.30 |
| | 110301 | 2 | 0.38 | 0.44 |
| | 110502 | 4 | 0.06 | 0.15 |
| 胶囊 | 1010016 | 5 | 0.11 | 0.23 |
| | 1103009 | 5 | 0.14 | 0.32 |
| | 1103010 | 4 | 0.13 | 0.29 |
| 分散片 | 091243 | 4 | 0.07 | 0.20 |
| | 100922 | 2 | 0.11 | 0.20 |
| | 1004211 | 3 | 0.11 | 0.21 |

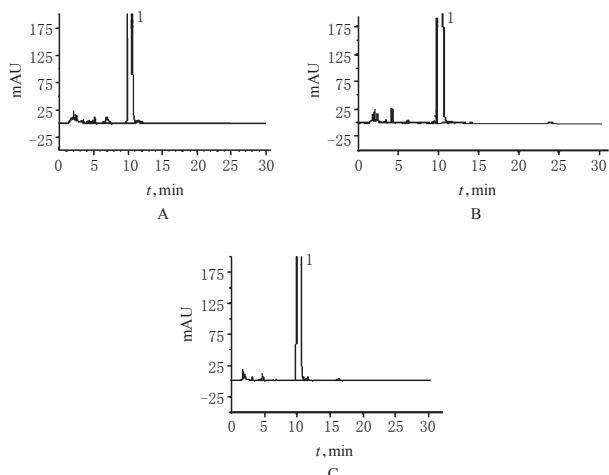


图3 样品中有关物质检查高效液相色谱图

A.普通片(批号:110201);B.胶囊(批号:1010016);C.分散片(批号:091243);1.DH

Fig 3 HPLC chromatograms of related substance determination in samples

A. common tablet (lot No. 110201); B. capsule (lot No. 1010016); C. dispersible tablet (lot No. 091243); 1. donepezil hydrochloride

3 讨论

本文采用了USP35的流动相系统,该系统含有离子对试剂癸烷磺酸钠,而现行国标中有关物质的流动相系统多采用不同浓度的磷酸盐缓冲液-甲醇(或乙腈)系统。笔者在前期试验通过采用系统适用性溶液对不同的流动相系统进行考察,结果表明,系统溶液中的3个杂质在国标色谱系统中不能完全分开,即杂质a与杂质c分不开,且杂质b峰形不对称。在USP35色谱系统中,3个杂质均相互完全分离,而且峰形对称,由此可见,USP35的流动相系统优于国家标准。

本文建立的有关物质检查方法可以准确地测定DH片、胶囊和分散片中的有关物质,完善和统一了现行的众多国家标准,作为质量标准中的重要指标严格控制了该品种大部分口服剂型的质量,具有一定的现实意义。

参考文献

- [1] 郝博济.阿尔茨海默症治疗药物的研发现状和发展趋势[J].医学研究杂志,2012,41(10):9.
- [2] 哈娜,哈力,杨习江.2种用药方案治疗阿尔茨海默病的经济学评价[J].中国药房,2011,22(14):1250.
- [3] The United States Pharmacopoeial Convention. USP 35-NF30[S]. Rockville: the United States Pharmacopoeial Convention, 2012:2967.
- [4] Society of Japanese Pharmacopoeia. Japanese pharmacopoeia[S].16 ed. Tokyo: The Ministry of Health, Labor and Welfare, 2011:745-747.
- [5] 国家食品药品监督管理局.YBH02222003 盐酸多奈哌齐片[S].2003-06-02.
- [6] 国家食品药品监督管理局.YBH00822004 盐酸多奈哌齐胶囊[S].2004-01-18.
- [7] 国家食品药品监督管理局.YBH06682008 盐酸多奈哌齐分散片[S].2008-06-08.

(收稿日期:2013-12-31 修回日期:2014-02-18)